

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
18. Mai 2006 (18.05.2006)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2006/050966 A1

(51) Internationale Patentklassifikation:

A61K 8/19 (2006.01) A61K 8/73 (2006.01)
A61K 8/21 (2006.01) A61Q 11/00 (2006.01)
A61K 8/24 (2006.01) A61K 6/00 (2006.01)
A61K 8/34 (2006.01) A61K 6/027 (2006.01)
A61K 8/65 (2006.01) A61K 6/06 (2006.01)

(74) Anwälte: WEICKMANN & WEICKMANN usw.; Post-
fach 860 820, 81635 München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,
AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,
CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES,
FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,
KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV,
LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI,
NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG,
SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US,
UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2005/012101

(22) Internationales Anmeldedatum:
11. November 2005 (11.11.2005)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,
GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG,
ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU,
TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,
EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC,
NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG,
CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(30) Angaben zur Priorität:

10 2004 054 584.7
11. November 2004 (11.11.2004) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme
von US): MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT ZUR
FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTEN E.V.
[DE/DE]; Hofgartenstrasse 8, 80539 München (DE).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BUSCH, Susanne
[DE/DE]; Wachwitzgrund 72, 01326 Dresden (DE).
KNIEP, Rüdiger [DE/DE]; Wupperstrasse 26a, 40764
Langenfeld (DE).

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Ab-
kürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Co-
des and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der
PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: INDUCED REMINERALISATION OF HUMAN DENTAL ENAMEL

(54) Bezeichnung: INDUZIERTER REMINERALISATION VON HUMANEM ZAHNSCHMELZ

(57) Abstract: The invention relates to the induced remineralisation of human dental enamel and especially the formation of apatite on dental material.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Anmeldung betrifft die induzierte Remineralisation von humanem Zahnschmelz und insbesondere den Aufbau von Apatit auf Zahnmaterial.



WO 2006/050966 A1

Induzierte Remineralisation von humanem Zahnschmelz

Beschreibung

Die vorliegende Anmeldung betrifft die induzierte Remineralisation von humanem Zahnschmelz und insbesondere den Aufbau von Apatit auf Zahnmaterial. Die Anmeldung betrifft auch die induzierte Remineralisation von humanem Dentin und insbesondere den Aufbau von Dentin auf Zahnmaterial.

Zähne sind Verbundstoffe aus Apatit und Proteinen. Es handelt sich bei ihnen um sehr harte Biomaterialien auf der Basis von Calcium und Phosphat. Der Zahnschmelz, die äußere Schicht der Zahnkrone ist der härteste Teil des Zahns und enthält keine lebenden Zellen. Zahnschmelz besteht aus anorganischen Kristallen, welche typische hoch orientierte Anordnungen aufweisen. Zahnschmelz ist ein Gewebe, das, sobald es einmal gebildet ist, lebenslang nahezu unverändert bleibt, da die Zellen, welche beim Aufbau der Zähne beteiligt sind, absterben, sobald die Zahnbildung abgeschlossen ist. Ein fertiger Zahnschmelz besteht aus etwa 95 Gew.-% Apatit, etwa 3 Gew.-% Proteinen und Lipiden und etwa 2 Gew.-% Wasser.

Dentin ist die Bezeichnung für eine dem Knochen verwandte Hartsubstanz, die den Kern des Zahnes bei Säugetieren und dem Menschen bildet. Dentin besteht zu ca. 30 % aus einer zellfreien organischen Grundsubstanz, insbesondere Glycoproteinen, in die Kollagenfasern eingelagert sind. Die anorganischen Bestandteile sind vor allem Hydroxylapatit, Fluorapatit und geringe Mengen an Carbonaten, Magnesium und Spurenelementen.

Um Schädigungen von Zähnen, insbesondere durch Karies zu vermeiden oder zu reparieren, wurde seit langem versucht, remineralisierende Systeme einzusetzen. Dabei wurde zunächst versucht, durch Aufbringen von Calciumphosphatverbindungen die Beschaffenheit der Zähne zu verbessern. Solche Einkomponentensysteme, bei denen versucht wird, bereits vorgefertigtes Zahnmaterial, beispielsweise Apatit, Hydroxyapatit oder

andere Calciumphosphatverbindungen auf die Zähne aufzubringen, sind unter anderem in EP 0 666 730 B1 oder WO 01/95863 beschrieben. Das Problem solcher Systeme besteht darin, dass das Behandeln von Zahnmaterial mit Calciumphosphatverbindungen nicht zu einem Aufwachsen von strukturell dem Zahnmaterial ähnlichem Apatit führt, sondern vielmehr zu einer bloßen Anlagerung von Apatitkristallen auf dem Zahnmaterial, wobei die Apatitkristalle eine vom Zahnmaterial völlig unterschiedliche Morphologie aufweisen. Somit wird keine Festigung des Zahnschmelzes oder dauerhafte Füllung von Läsionen bewirkt, da die angelagerten Apatitkristalle keine ausreichende Ähnlichkeit und Haftung zum natürlichen Zahnmaterial aufweisen.

Weiterhin wurde versucht mit Zweikomponentensystemen eine Remineralisierung von Zähnen zu erhalten, wobei die Systeme üblicherweise eine Calciumphase sowie eine Phosphatphase umfassen. Zweikomponentensysteme sind beispielsweise in WO 98/10736 und DE 33 03 937 A1 beschrieben. Nachteilig bei den dort beschriebenen Vorgehensweisen ist, dass die in WO98/10736 beschriebene Methode Calcium- und Phosphatlösungen vor der Anwendung vereinigt, sodass sich eine metastabile Lösung bildet, aus der auf dem Zahn Apatit auskristallisieren soll. Die Methode erlaubt keine lokalisierte Behandlung am Zahn, da das Reagenz als Mundspülung oder Gel eingesetzt wird, das mit der Zahnbürste einmassiert wird. Weiterhin wird die Kompositnatur des nativen Schmelzes nicht berücksichtigt, da im System keine organische Komponente enthalten ist. Die Bildung zahnschmelzähnlicher Kristallite ist demnach unwahrscheinlich. DE 33 03 937 beschreibt ein Verfahren, bei dem Calcium- und Phosphationen getrennt nacheinander auf den Zahn aufgebracht werden, indem dieser in eine Kappe getaucht wird, welche die entsprechenden Ionen in einer Gelatinematrix enthält. Bei einer empfohlenen Einwirkungszeit von nur zwei Minuten ist nicht zu erwarten, dass sich wirklich größere Mengen Apatit auf der Zahnoberfläche bilden können. Es ist nicht mit Bildmaterial belegt, dass die neugebildete Apatitschicht schmelzähnliche Strukturen aufweist.

In weiteren Arbeiten (S. Busch et al., Eur. J. Inorg. Chem. (1999), 1643-1653; S. Busch et al., Chem. Mater. 13 (2001), 3260-3271; S. Busch, Zahnärztliche Mitteilungen 91, Nr. 10 (2001), 34-38; R. Kniep et al., Angew.

Chem. 108, Nr. 22 (1996), 2787-2791) wurde die biomimetische Morphogenese von Fluorapatit-Gelatinkompositen untersucht. Dabei wurde biomimetisches Wachstum und Selbstorganisation von Fluorapatit-Aggregaten durch Diffusion in denaturierten Collagen-Matrizes beobachtet. Die Grundlagen der Fluorapatitbildung in Gelatine-Gelen wurde dabei mittels Doppeldiffusionsversuchen von Calcium- und Phosphatlösungen in einem U-Rohr untersucht. Diese Arbeiten beschreiben die Bildung von Fluorapatitkügelchen innerhalb des verwendeten Gels.

WO 03/099234 A1 beschreibt ein Verfahren zum Aufwachsen von Apatit auf Zahnmaterial, umfassend die Schritte:

- (i) Auftragen eines ersten Gels, welches Gelatine sowie Phosphationen umfasst,
- (ii) Auftragen eines zweiten Gels, wobei mit diesem zweiten Gel die erste Gelschicht abgedeckt wird und
- (iii) Auftragen eines Calciumionen enthaltenden Mediums, wobei ein Aufbau von Apatit an der Oberfläche des Zahnmaterials bewirkt wird.

Mit diesem Verfahren konnten bereits gute Ergebnisse erhalten werden. Es war jedoch wünschenswert, dieses Verfahren, insbesondere im Hinblick auf die Wachstumsgeschwindigkeit der Apatitschicht weiter zu verbessern.

Eine Aufgabe der vorliegenden Anmeldung war es deshalb, ein Verfahren bereitzustellen, mit dem Defekte an Zahnmaterial durch Remineralisation mit hoher Wachstumsrate ausgebessert werden können.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß gelöst durch die Verwendung

- (i) eines alkalischen Mediums,
 - (ii) eines ersten Gels, welches Gelatine sowie Phosphationen umfasst, und
 - (iiia) eines zweiten Gels, welches frei von Phosphationen ist, wobei mit diesem zweiten Gel die erste Gelschicht abgedeckt wird und/oder
 - (iiib) eines Calciumionen enthaltenden Mediums,
- zur Herstellung eines Mittels bzw. eines Kits zum Aufwachsen von Apatit auf Zahnmaterial.

Überraschenderweise wurde festgestellt, dass durch Vorbehandlung des Zahnmateri als mit einem alkalischen Medium eine deutliche Erhöhung der Wachstumsgeschwindigkeit von Fluorapatit auf Zahnproben, insbesondere humanen Zahnproben, erzielt werden kann. Insbesondere konnten Wachstumsraten von 1 bis 5 $\mu\text{m}/\text{Tag}$, insbesondere von 3 bis 5 $\mu\text{m}/\text{Tag}$ erreicht werden.

Erfindungsgemäß bevorzugt wird als alkalisches Medium eine alkalische Lösung, insbesondere eine wässrige alkalische Lösung, oder ein alkalisches Gel eingesetzt. Das alkalische Medium hat dabei bevorzugt einen pH-Wert von 7,1 bis 14, insbesondere von mindestens 7,3, mehr bevorzugt von mindestens 7,5 und am meisten bevorzugt von mindestens 8 und bevorzugt bis zu 10, mehr bevorzugt bis zu 9. Besonders vorteilhaft wird als alkalisches Medium eine Zusammensetzung eingesetzt, die im Mundraum von Menschen verträglich ist, beispielsweise eine 0,05 bis 1N NaOH-Lösung. Es hat sich herausgestellt, dass das alkalische Medium, und insbesondere Natronlauge, weiterhin vorteilhafterweise bereits Calciumionen enthalten kann, beispielsweise 10 bis 50 % einer 0,1 bis 0,3N CaCl_2 -Lösung.

Erfindungsgemäß ist es möglich, ein wirkliches Aufwachsen von Zahnschmelz-ähnlichem Material zu erzielen. Ein wesentlicher Vorteil besteht darin, dass eine hohe Ordnung kleiner Apatitnadeln erhalten wird, die strukturell eine große Ähnlichkeit zu nativem Zahnschmelz aufweisen. Bei entsprechender Substratorientierung ist praktisch kein Unterschied zwischen aufgewachsenem Apatit und ursprünglichem Zahnmaterial zu erkennen.

In einer weiteren Ausführungsform ist es erfindungsgemäß möglich, Dentin zu remineralisieren. Dabei kann ein Aufwachsen von Dentinschichten oder Dentin-ähnlicher Schichten auf Zahnmaterial erzielt werden. Die aufgewachsene Schicht entspricht in Kristallitgröße und Kristallitordnung natürlichem Dentin.

Weitere Vorteile der Erfindung sind, dass von einem echten Aufwachsen der Fluorapatitkristallite auf dem Zahns substrat ausgegangen werden kann. Die Vickers-Härte dieser neuen Schicht entspricht dem natürlichen Schmelz bzw. natürlichem Dentin. Die Durchführung der einzelnen Schritte ist so

einfach, dass die Remineralisation von Zahnschmelz oder die Remineralisation von Dentin im Prinzip vom Patienten selbst durchgeführt werden kann. Das Gel kann lokal auf die geschädigten Stellen aufgetragen werden und verfestigt sich dort. Da das erwärmte Gel sehr schnell abkühlt, sind kaum Wartezeiten zwischen den einzelnen Schritten nötig.

Da die Erweichungstemperatur des Gels etwas über der normalen Körpertemperatur liegt (38 bis 42 °C), wird ein Schmelzen des Gels während der Einwirkungsdauer verhindert. Damit kann eine unkontrollierte Mineralisation vermieden werden.

Erfindungsgemäß wird Apatit auf Zahnmaterial aufgewachsen, indem

- (i) ein alkalisches Medium aufgetragen wird, und
- (ii) ein erstes Gel, welches Gelatine sowie Phosphationen umfasst, auf das mit dem alkalischen Medium vorbehandelte Zahnmaterial aufgetragen wird.

Weiterhin wird erfindungsgemäß einer der Schritte (iia) oder (iib) oder beide Schritte durchgeführt, also das Auftragen eines zweiten Gels, welches frei von Phosphationen ist, wobei mit diesem zweiten Gel die erste Gelschicht abgedeckt wird und/oder das Auftragen eines Calciumionen enthaltenden Mediums. Insbesondere bei Verwendung eines Calciumionen enthaltenden Gels als Calciumionen enthaltenden Medium kann dieses Gel direkt (also ohne Behandlung mit dem Gel (iia)) auf das erste Gel aufgebracht werden.

Erfindungsgemäß wurde weiterhin festgestellt, dass durch Verwendung eines ersten Gels, welches weiterhin mindestens eine Calciumphosphatverbindung enthält, ebenfalls eine Verbesserung der Wachstumsgeschwindigkeit von Fluorapatit erzielt werden kann. Geeignete Calciumphosphatverbindungen sind beispielsweise Fluorapatit, Monetit, Brushit, amorphes Calciumphosphat, Hydroxylapatit etc. Die Calciumphosphatverbindung wird bevorzugt in Form von Partikeln und am meisten bevorzugt in Form von sphärischen oder überwiegend sphärischen Partikeln eingesetzt. Die Größe der Partikel beträgt dabei vorzugsweise 5 bis 50 µm, insbesondere 10 bis 20 µm. Geeigneterweise wird dem ersten Gel 5 bis 30 Gew.-% an Calciumphosphatverbindungen zugesetzt. In einer besonders bevorzugten Ausführungsform umfasst das erste Gel 5 bis 30

Gew.-% überwiegend sphärischer Fluorapatitpartikel mit einer Größe von 5 bis 50 µm.

Durch Zugabe von Fluoridionen zum phosphathaltigen Gel kann die Resistenz der Schicht gegenüber Säuren erhöht werden.

Erfindungsgemäß ist es möglich durch induzierte Remineralisation Zahnschmelzdefekte zu regenerieren. Durch den Einsatz eines zweischichtigen Gels, welches bei Körpertemperatur fest ist und lokal auf die betroffene Stelle am Zahn aufgebracht werden kann sowie durch die Verwendung einer Mundspülung als Calciumionen enthaltenden Medium werden Mineralisationsbedingungen geschaffen, welche die Bildung einer Zahnschmelz-ähnlichen Substanz bewirken, die direkt auf dem Zahn aufwächst. Bei der bisher veröffentlichten Doppeldiffusionsmethode wurde lediglich gezeigt, dass Fluorapatit, der durch Gegenstromdiffusion von Calcium- und Phosphationen in einem Gelatinegel entsteht, kugelige Aggregate bildet, deren organischer Gewichtsanteil dem von reifem, menschlichem Zahnschmelz entspricht. Die Doppeldiffusionsmethode hat aber weder eine Möglichkeit eröffnet, am Menschen die Remineralisation von Zahnschmelz zu ermöglichen noch diese Möglichkeit in irgendeiner Weise impliziert. Der bei der Doppeldiffusionsmethode eingesetzte Versuchsaufbau bewirkt die Bildung von kleinen Kügelchen und erlaubt nicht das Aufwachsen von gleichmäßigen Schichten von Apatitmaterial auf einem Substrat. Dies ist erst durch die erfindungsgemäße Vorgehensweise möglich.

Weiterhin ist es möglich, durch induzierte Remineralisation von Dentin auch Zahnkerndefekte zu regenerieren. Dabei werden Dentinschichten gebildet, die direkt auf dem Zahnmaterial anwachsen.

Die Erfindung lässt sich insbesondere beim Menschen anwenden. Dabei können beispielsweise kleinere kariöse Defekte durch induzierte Remineralisation ausgeheilt oder empfindliche Stellen am Zahn mit einer schützenden Apatitschicht bedeckt werden. Die Vorgehensweise zur Behandlung ist dabei bevorzugt wie folgt: Die kariöse Stelle wird zunächst mit einem alkalischen Medium, z.B. mit Natronlauge, behandelt und dann mit einer dünnen Schicht des etwa 50 °C warmen phosphathaltigen Gels

bestrichen oder mit einer geeigneten Spritze aufgetragen, die gewärmt werden kann. Das Gel erstarrt sofort auf der Zahnoberfläche und wird nach der gleichen Methode mit dem Schutzgel bzw. einem Calciumionen enthaltenden Mittel abgedeckt. 1- bis 3-mal am Tag wird dann gegebenenfalls mit einer Calciumlösung eine etwa 10-minütige Mundspülung durchgeführt. Anstelle der Mundspülung kann auch ein Auftragen eines Calciumionen enthaltenden Gels vorgenommen werden. Bevorzugt ist z.B. ein 0,1 bis 0,5 N Calcium-Gel, durch welches die Applikation weiter vereinfacht wird. Zwischen den Spülungen wird der Zahn mit einer passenden Kappe abgedeckt, die aus Plastik oder Metall sein kann, sodass der Patient nicht behindert ist und die Remineralisation ungestört stattfinden kann. Wenn viele Zähne betroffen sind, kann auch die ganze Zahnreihe mit einer Schiene geschützt werden, wie sie z.B. gegen Zähneknirschen eingesetzt wird. Alle zwei Tage wird das Gel gewechselt, zu dieser Gelegenheit wird der betroffene Zahn gereinigt und desinfiziert.

Erfindungsgemäß wird auf das Zahnmaterial ein erstes Gel aufgebracht. Dieses Gel enthält Gelatine sowie Phosphationen und gegebenenfalls weitere Bestandteile, insbesondere Calciumphosphate, wie oben erläutert. Der Gehalt an Gelatine im ersten Gel beträgt bevorzugt von mindestens 15 Gew.-%, mehr bevorzugt von 25 Gew.-% bis zu 40 Gew.-%, mehr bevorzugt bis zu 30 Gew.-%. Der Gelatine kommt insbesondere eine Funktion bei der Ausbildung der Morphologie des gebildeten Apatits zu. Es wurde überraschenderweise festgestellt, dass bei der Verwendung von Gelatine ein Apatitmaterial an der Oberfläche von Zahnmaterial abgeschieden wird, welches eine große Ähnlichkeit mit nativem Zahnschmelz bzw. Dentin aufweist. Bei Verwendung anderer organischer Matrices wurden hingegen andere Morphologien der Apatitkristallisate beobachtet, sodass es nicht zu einem Aufbau von Apatit an der Oberfläche des Zahnmaterials, wie erfindungsgemäß angestrebt, kommt.

Gelatine ist ein Polypeptid, welches insbesondere durch Hydrolyse des in Haut und Knochen von Tieren enthaltenen Collagens gewonnen werden kann. Gelatine weist üblicherweise ein Molekulargewicht von 15.000 bis über 250.000 g/mol auf und kann aus Collagen unter sauren oder alkalischen Bedingungen gewonnen werden. Erfindungsgemäß bevorzugt werden folgende Gelatinen eingesetzt: Sauer hydrolysierte Gelatinesorten (Typ A),

z.B. hergestellt aus Schweineschwarte oder Kalbshaut mit hohem Bloom-Wert, z.B. 250 bis 350 Bloom (unter dem Bloomwert versteht man eine Kenngröße, welche die Gelfestigkeit kennzeichnet, im Allgemeinen gilt, je höher der Bloomwert, umso höher der Anteil langkettiger Moleküle in der Gelatine und um so höher die Gelfestigkeit).

Neben Gelatine, welche zur Ausbildung der gewünschten Morphologie des Apatits und den Aufbau an der Oberfläche des Zahnmaterials enthalten ist, umfasst das erste Gel weiterhin Phosphationen. Diese Phosphationen stellen einen Grundbestandteil des aus Calciumphosphat aufgebauten Apatits dar. Die Konzentration der Phosphationen im ersten Gel beträgt bevorzugt mindestens 0,01 mol/l, mehr bevorzugt mindestens 0,05 mol/l und bis zu 0,5 mol/l, mehr bevorzugt bis zu 0,2 mol/l und insbesondere 0,08 mol/l.

Das erste Gel weist bevorzugt eine Erweichungstemperatur auf, die über der normalen Körpertemperatur liegt, sodass das Gel bei Körpertemperatur fest ist. Die Erweichungstemperatur des ersten Gels liegt bevorzugt im Bereich von 38 bis 45 °C, mehr bevorzugt von 38 bis 42 °C. Das erste Gel wird bevorzugt in erwärmter Form, beispielsweise auf 45 bis 55 °C erwärmt aufgetragen. Nach dem Auftragen kühlt das Gel ab und wird fest.

Erfindungsgemäß kann in einem weiteren Schritt ein zweites Gel, ein sogenanntes Schutzgel aufgetragen werden. Mit diesem zweiten Gel wird insbesondere die erste Gelschicht abgedeckt. Das Schutzgel, welches als Geldeckschicht fungiert, bewirkt überraschenderweise, dass die Mineralisation, also die Bildung von Apatit, überwiegend oder ausschließlich an der Zahnoberfläche und nicht an der Grenzschicht Gel-Flüssigkeit stattfindet. Durch den zweischichtigen Gelaufbau, der beim erfindungsgemäßen Verfahren erzielt wird, kommt es zu einem Aufbau bzw. Aufwachsen von Apatit auf dem Zahnmaterial und nicht zu einer Kristallisation oder Ausbildung von Apatitkugeln innerhalb des Gels, wie es im Stand der Technik beschrieben wird. Durch den zweischichtigen Aufbau ist somit eine praktikable und technisch sinnvolle Remineralisation der Zähne möglich.

Der pH-Wert und die Gelkonzentrationen des zweiten Gels entsprechen

typischerweise denen, die hierin für das erste Gel angegeben sind. Auch das zweite Gel weist bevorzugt eine Erweichungstemperatur von 38 bis 45 °C, insbesondere von 38 bis 42 °C auf und wird bevorzugt auf 45 bis 55 °C erwärmt aufgebracht.

In einem dritten Schritt oder anstelle des Schutzgels (insbesondere bei Verwendung eines Calciumionen enthaltenden Gels) wird schließlich ein Calciumionen enthaltendes Medium aufgebracht. Das Calciumionen enthaltende Medium stellt den weiteren zur Bildung von Apatit benötigten Grundbaustoff, nämlich Calciumionen bereit. Diese Calciumionen diffundieren durch das Schutzgel und die erste Gelschicht bis zur Oberfläche des Zahnmaterials und werden dort als Apatit abgeschieden. Die Konzentration der Calciumionen im Calciumionen enthaltenden Medium beträgt vorzugsweise mindestens 0,01 mol/l, mehr bevorzugt mindestens 0,05 mol/l und bis zu 0,5 mol/l, mehr bevorzugt bis zu 0,2 mol/l und insbesondere 0,13 mol/l.

Es wurde festgestellt, dass erfindungsgemäß eine gleichmäßige Schicht paralleler oder strahlig gewachsener Apatitkristallite gebildet werden kann. Weiterhin zeigt diese Schicht keinen oder nur einen Submikrometer großen Randspalt zum nativen Zahnmaterial auf. Die Wachstumsrichtung der Apatitkristallite erfolgt unabhängig von der Orientierung der Schmelzprismen senkrecht zum Substrat, sodass bei entsprechender Orientierung der Schmelzprismen die Längsorientierung der künstlich aufgewachsenen Kristalle weitgehend identisch mit den Kristallen in den Prismen verläuft. Die Größenordnung von Schmelzkristallen und aufgewachsenem Fluorapatit ist gleich. Innerhalb der Schichten kann eine dichte und gleichmäßige Packung beobachtet werden. Weiterhin weist die aufgebrachte Apatitschicht eine Vickers-Härte auf, die der vom nativen Zahnschmelz entspricht. Die erfindungsgemäß aufgetragenen Apatitschichten weisen insbesondere eine Vickers-Härte im Bereich von 250 bis 400 HV auf.

Erfindungsgemäß ist es möglich, Apatitschichten in beliebiger Dicke aufzubringen, da die erreichte Schichtdicke von der Häufigkeit des Gelwechsels abhängig ist. Mit dem erfindungsgemäßen Verfahren können Wachstumsgeschwindigkeiten von 1 bis 5 µm/Tag, insbesondere von 3 bis 5 µm/Tag erreicht werden.

In einer bevorzugten Ausführungsform wird als erstes Gel ein Gelatine-Glycerin-Gel eingesetzt. Das Gewichtsverhältnis von Gelatine zu Glycerin beträgt dabei bevorzugt 1:5 bis 5:1, insbesondere 1:2 bis 2:1. Glycerin hat die Wirkung, dass der Erweichungspunkt des Gels über die normale menschliche Körpertemperatur angehoben wird. Die erzielte Gelfestigkeit ist notwendig, um das Zweischichtsystem während der Mineralisation zu erhalten, sodass eine gezielte, kontrollierte Kristallabscheidung ermöglicht wird. In einem flüssigen Gel würde es zu einer spontanen Präzipitation feinkristallinen Materials kommen, welches nicht am Zahn anwächst.

Das erste Gel enthält bevorzugt weiterhin Fluoridionen. Das Fluorid kann beispielsweise als Natriumfluorid oder Ammoniumfluorid zugegeben werden. In dieser Ausführungsform kann Fluor-reicher Apatit oder Fluorapatit auf der Oberfläche des Zahnmaterials aufgewachsen werden. Fluorapatit ist insbesondere säureresistenter als der Carbonat-haltige Hydroxyapatit des natürlichen Zahnschmelzes, wobei die Morphologie der sich bildenden Schichten aus Fluorapatit dennoch eine große Ähnlichkeit mit nativem Zahnschmelz aufweist.

Die Wachstumsgeschwindigkeit des Apatits oder Fluorapatits wird unter anderem durch den pH-Wert des ersten Gels bestimmt. Bevorzugt weist das erste Gel einen pH-Wert von 2,0 bis 6,0, insbesondere von 4,0 bis 6,0, mehr bevorzugt von 5,0 bis 5,5 auf.

Weiterhin wird als zweites Gel ein Schutzgel oder ein Calciumionen enthaltendes Gel eingesetzt. Mit diesem Gel wird die Phosphationen-haltige erste Gelschicht abgedeckt. Durch Verwendung dieser Gelschicht findet überraschenderweise die Apatitbildung ausschließlich an der Oberfläche des Zahnmaterials statt und es kommt nicht zu einer spontanen Auskristallisierung von Apatitkristalliten oder Kompositaggregaten, wie sie bei den im Stand der Technik bekannten Vorgehensweisen beobachtet wird. Im Gegensatz zu den Untersuchungen mit Doppeldiffusionskammern kann somit gezielt eine Beschichtung von Zahnmaterialoberflächen erhalten werden. Während das zweite Gel vorzugsweise keine Materialien enthält, die in den Apatit eingebaut werden sollen, also insbesondere Phosphationen-, Calciumionen- und/oder Fluorionen-frei ist, ist es in bestimmten

Ausführungsformen möglich, ein Calciumionen enthaltendes Gel als zweites Gel aufzubringen. Auch damit wurden Wachstumsgeschwindigkeiten von mehreren μm pro Tag erzielt. Zur Bildung des zweiten Gels kann ebenfalls Gelatine eingesetzt werden, wobei ein Gelatine-Glycerin-Gel bevorzugt ist. Als zweites Gel kann aber auch ein anderes Gel, z.B. ausgewählt aus Polysacchariden, etwa Agarose oder Carragnan, sowie Carboxymethylcellulose verwendet werden.

Schließlich kann das mit ersten Gel und gegebenenfalls mit Schutzgel beschichtete Zahnmaterial mit einem Calcium enthaltenden Medium behandelt werden. Als Calcium enthaltendes Medium kann beispielsweise eine Calciumionen enthaltende Lösung oder/und ein Calciumionen enthaltendes Gel eingesetzt werden. Das Calciumionen enthaltende Medium wird dabei bevorzugt unter Verwendung eines wasserlöslichen Calciumionen enthaltenden Salzes, beispielsweise aus CaCl_2 hergestellt.

Das Calciumionen enthaltende Medium weist bevorzugt einen pH-Wert von 6 bis 8 auf.

Erfindungsgemäß werden somit die beiden Bestandteile von Apatit, nämlich Phosphationen und Calciumionen jeweils getrennt als eigene Komponente zugeführt, wobei die Calciumphosphatbildung auf der Zahnoberfläche stattfindet.

Um ein lokales Übersäuern an der Mineralisationsfront durch die Protonenabgabe bei der Apatitbildung zu verhindern, wird das Phosphatgel bevorzugt mit einem Puffersystem versetzt, bevorzugt einem Essigsäurepuffer oder α - α - α -Tris-(hydroxymethyl)methylamin-Puffer.

Vor der Behandlung mit dem alkalischen Medium oder/und mit dem ersten Gel kann das Zahnmaterial vorbehandelt werden, insbesondere entfettet, angeätzt oder/und gespült werden. Beispielsweise kann für eine bessere Wirksamkeit die Zahnoberfläche zunächst mit Ethanol entfettet und mit Phosphorsäure angeätzt und anschließend mit entionisiertem Wasser gespült werden.

Das erfindungsgemäße Verfahren eignet sich insbesondere zur Behandlung

von Humanzähnen oder Zahnschmelz. Dabei können kariöse Defekte durch Remineralisation behandelt werden oder aber auch das Zahnmaterial prophylaktisch mit einer schützenden Apatit- oder Fluorapatitschicht bedeckt werden. Die Apatitschichten bilden sich sowohl auf Zahnschmelz als auch auf Dentin als Substrat.

Die Erfindung betrifft weiterhin eine Zusammensetzung bzw. einen Kit, welche bzw. welcher insbesondere für die oben beschriebene Verwendung geeignet ist und

- a) ein alkalisches Medium
- b) ein erstes Gel, welches Gelatine sowie Phosphationen umfasst, und
- c1) ein zweites Gel, welches frei von Phosphationen ist oder/und
- c2) ein Calciumionen enthaltendes Medium umfasst.

Die bevorzugten Ausgestaltungen der Bestandteile sind dabei wie oben beschrieben.

Die Erfindung wird durch die folgenden Beispiele weiter erläutert.

Beispiele

Beispiel 1 (Vergleichsbeispiel)

Schritt 1. Vorbereitung des Zahnmaterials

Ein humaner Zahn (beliebig) wurde von seiner Wurzel getrennt und die Krone in etwa 0,5 mm breite Scheiben gesägt. Die Scheiben wurden 30 s lang in einer 30 %-igen Phosphorsäurelösung getaucht, mit entionisiertem Wasser gewaschen und getrocknet.

Schritt 2. Vorbereitung des Gels

Aus 8,56 g Gelatine, 8,24 g 85 %-iger Glycerinlösung, 7,26 g H₂O, 1,8 ml 2N NaOH, 2,7 ml 2 N HAc, 13,8 mg NaF, 236 mg Na₂HPO₄ wurde bei 80 °C unter Rühren ein homogenes Gel hergestellt, dessen pH-Wert bei 5,0 lag. Ein weiteres Gel wurde aus 8,56 g Gelatine, 8,24 g 85 %-iger Glycerinlösung und 11,76 g H₂O hergestellt. Eine 0,133 molare Calciumlösung wurde aus CaCl₂-Salz hergestellt.

Schritt 3. Induzierte Mineralisation an der Zahnoberfläche

Die Oberfläche der Zahnscheiben wurde mit etwa 0,5 ml des phosphathaltigen Gels bestrichen. Nach dessen Verfestigung erfolgte eine Bedeckung mit etwa 0,5 ml des zusatzfreien Gels. Die Zahnscheibe wurde in ein einseitig verschlossenes Plastikrohr eingefügt und in einer Calciumlösung bei 37 °C gelagert. Das Gel und die Lösung wurden alle 7 Tage erneuert, insgesamt 16 x. Zur Begutachtung der aufgewachsenen Schicht erfolgte ein Aufbruch der Probe senkrecht zur Schnittfläche, um die Schichtdicke ausmessen zu können. Es bildete sich eine gleichmäßige Schicht elongierter Kristallite mit einer Schichtdicke von 7,2 µm. Das entspricht einer Wachstumsgeschwindigkeit von etwa 450 nm/Woche.

Beispiel 2

Die Vorgehensweise erfolgt analog Beispiel 1, jedoch wurde zunächst eine Behandlung mit einer alkalischen Lösung durchgeführt. Weiterhin erfolgte die Lagerung in Calciumlösung, wie oben beschrieben, oder in SBF (Simulated Body Fluid mit 142 mM Na⁺, 5 mM K⁺, 15 mM Mg²⁺, 25 mM Ca²⁺, 148,8 mM Cl⁻, 4,2 mM HCO₃²⁻, 1 mM HPO₄²⁻, 0,5 mM SO₄²⁻) oder trocken. Dabei konnten Wachstumsgeschwindigkeiten von 0,9 bis 1,4 µm/Tag bei trockener Lagerung, von 1,4 bis 1,9 µm/Tag bei Lagerung in SWF und von 2,1 µm/Tag bei Lagerung in einer Ca-Lösung beobachtet werden. Die Schichtbildung erfolgte bevorzugt auf Dentin.

Beispiel 3

Das Vorgehen entspricht Beispiel 2. Es wurden jedoch Fluorapatit-Sphärolithen mit einem Durchmesser von ≤ 20 µm, einem Durchmesser von 20 bis 25 µm bzw. einem Durchmesser von 50 bis 100 µm dem ersten Gel zugesetzt. Dabei konnten Wachstumsgeschwindigkeiten von 5 µm/Tag bei Zusatz von Fluorapatit-Sphärolithen mit einem Durchmesser ≤ 20 µm, eine Wachstumsgeschwindigkeit von 4 µm/Tag bei Zusatz von Fluorapatit-Sphärolithen mit einem Durchmesser von 20 bis 25 µm und eine Wachstumsgeschwindigkeit von 1,25 µm/Tag bei Zusatz von Fluorapatit-Sphärolithen mit einem Durchmesser von 50 bis 100 µm erhalten werden.

Beispiel 4

Das Vorgehen entspricht Beispiel 2, wobei anstelle der Calciumlösung ein Calciumgel eingesetzt wurde. Auch hier konnten vergleichbare Wachstumsraten festgestellt werden.

Beispiel 5

Das Vorgehen entspricht Beispiel 4, wobei das Schutzgel weggelassen wurde. Auch hier wurden Wachstumsraten von 1,8 bis 5 $\mu\text{m}/\text{Tag}$ erhalten.

Ansprüche

1. Verwendung
 - (i) eines alkalischen Mediums,
 - (ii) eines ersten Gels, welches Gelatine sowie Phosphationen umfasst, und
 - (iiia) eines zweiten Gels, welches frei von Phosphationen ist, wobei mit diesem zweiten Gel die erste Gelschicht abgedeckt wird und/oder
 - (iiib) eines Calciumionen enthaltenden Mediums,zur Herstellung eines Mittels zum Aufwachsen von Apatit oder/und Dentin auf Zahnmaterial.
2. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass als alkalisches Medium eine alkalische Lösung oder ein alkalisches Gel eingesetzt wird.
3. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass das alkalische Medium einen pH-Wert von 7,1 bis 14, insbesondere von 7,5 bis 10 und bevorzugt von 8 bis 9 aufweist.
4. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass als alkalisches Medium 0,05 bis 1N NaOH eingesetzt wird.
5. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das alkalische Medium weiterhin Calciumionen enthält.
6. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass als erstes Gel ein Gelatine-Glycerin-Gel eingesetzt wird.

7. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das erste Gel weiterhin Fluoridionen enthält.
8. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das erste Gel einen pH-Wert von 2,0 bis 6,0 aufweist.
9. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das erste Gel weiterhin mindestens eine Calciumphosphatverbindung enthält.
10. Verwendung nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, dass das erste Gel weiterhin eine Calciumphosphatverbindung enthält, ausgewählt aus Fluorapatit, Monetit, Brushit, amorphes Calciumphosphat und Hydroxylapatit.
11. Verwendung nach Anspruch 9 oder 10, dadurch gekennzeichnet, dass das erste Gel weiterhin Fluorapatitpartikel, insbesondere sphärische Fluorapatitpartikel enthält.
12. Verwendung nach einem der Ansprüche 9 bis 11, dadurch gekennzeichnet, dass das erste Gel 5 bis 30 Gew.-% an Calciumphosphatverbindungen, insbesondere an Fluorapatit enthält.
13. Verwendung nach einem der Ansprüche 9 bis 12, dadurch gekennzeichnet, dass das erste Gel sphärische Partikel von Calciumphosphatverbindungen, insbesondere sphärische Partikel von Fluorapatit enthält.
14. Verwendung nach einem der Ansprüche 9 bis 13, dadurch gekennzeichnet,

dass die Calciumphosphatverbindung als Partikel mit einer mittleren Größe von 5 bis 50 μm , insbesondere von 10 bis 20 μm eingesetzt werden.

15. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das zweite Gel fluoridionenfrei ist.
16. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das zweite Gel ausgewählt wird aus Gelatine-Glycerin-Gelen, Polysaccharid-Gelen oder Carboxymethylcellulose-Gelen.
17. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass man als Calciumionen enthaltendes Medium eine Calciumionen enthaltende Lösung oder ein Calciumionen enthaltendes Gel einsetzt.
18. Verwendung nach Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet, dass man bei Verwendung eines Calciumionen enthaltenden Gels kein zweites Gel (iiiä) einsetzt.
19. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das Calciumionen enthaltende Medium einen pH-Wert von 6 bis 8 aufweist.
20. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass man das Zahnmaterial vor dem Auftragen des alkalischen Mediums oder/und vor dem Auftragen des ersten Gels entfettet, anätzt oder/und spült.
21. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei dem Zahnmaterial um Humanzähne oder/und

Zahnschmelz handelt.

22. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Komponenten (i), (ii) und (iiia) oder/und (iiib) zur Behandlung von kariösen Defekten durch Remineralisation vorgesehen sind.
23. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das Zahnmaterial mit einer Dentinschicht oder/und einer schützenden Apatitschicht bedeckt wird.
24. Zusammensetzung, insbesondere zur Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 12, umfassend
 - a) ein alkalisches Medium,
 - b) ein erstes Gel, welches Gelatine sowie Phosphationen umfasst, und
 - c1) ein zweites Gel, welches frei von Phosphationen ist oder/und
 - c2) ein Calciumionen enthaltendes Medium.
25. Kit, insbesondere zur Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 12, umfassend
 - a) ein alkalisches Medium,
 - b) ein erstes Gel, welches Gelatine sowie Phosphationen umfasst,
 - c1) ein zweites Gel, welches frei von Phosphationen ist oder/und
 - c2) ein Calciumionen enthaltendes Medium.
26. Zusammensetzung nach Anspruch 24 oder Kit nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, dass die Komponenten a), b) oder/und c1) bzw. c2) weiterhin wie in einem der Ansprüche 2 bis 19 definiert sind.
27. Verfahren zum Aufwachsen von Apatit auf Zahnmaterial, umfassend die Schritte
 - (i) Auftragen eines alkalischen Mediums,
 - (ii) Auftragen eines ersten Gels, welches Gelatine sowie

Phosphationen umfasst, und

- (iia) Auftragen eines zweiten Gels, wobei mit diesem zweiten Gel die erste Gelschicht abgedeckt wird und/oder
- (iib) Auftragen eines Calciumionen enthaltenden Mediums, wobei ein Aufbau von Apatit an der Oberfläche des Zahnmaterials bewirkt wird.

28. Verwendung

- (i) eines ersten Gels, welches Gelatine sowie Phosphationen umfasst, und
- (iia) eines zweiten Gels, welches frei von Phosphationen ist, wobei mit diesem zweiten Gel die erste Gelschicht abgedeckt wird und/oder
- (iib) eines Calciumionen enthaltenden Mediums, zur Herstellung eines Mittels zum Aufwachsen von Apatit oder/und Dentin auf Zahnmateriel, wobei das erste Gel weiterhin mindestens eine Calciumphosphatverbindung enthält.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP2005/012101

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

| | | | | |
|----------|-----------|----------|-----------|----------|
| A61K8/19 | A61K8/21 | A61K8/24 | A61K8/34 | A61K8/65 |
| A61K8/73 | A61Q11/00 | A61K6/00 | A61K6/027 | A61K6/06 |

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, COMPENDEX, INSPEC, BIOSIS, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|------------|--|-----------------------|
| X | WO 03/099234 A (MAX PLANCK GESELLSCHAFT) 4 December 2003 (2003-12-04) cited in the application page 10, line 19 - line 20 examples claims | 1-26, 28 |
| A | DE 33 03 937 A (EBNER NORBERT DR) 20 June 1984 (1984-06-20) cited in the application example claims | 1-28 |
| | ----- -/-- | |

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *&* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

25 January 2006

Date of mailing of the international search report

03/02/2006

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Thornton, S

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP2005/012101

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|------------|--|-----------------------|
| A | DE 23 50 548 A (PROCTER & GAMBLE) 25 April 1974 (1974-04-25) page 1 page 2 page 9, paragraph 2 page 10, paragraph 2 ----- | 1-28 |
| A | DE 21 31 666 A (NASA) 10 February 1972 (1972-02-10) page 3, paragraphs 3,4 ----- | 1-28 |
| A | WO 98/10736 A (SMITHKLINE BEECHAM CONSUMER ;WIEDEMANN WOLFGANG (DE)) 19 March 1998 (1998-03-19) cited in the application abstract ----- | 1-28 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2005/012101

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Continuation of Box II.1

Although claim 27 relates to a method for treatment of the human or animal body, the search was carried out and was based on the stated effects of the composition.

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

Continuation of Box II.1

Although claim 27 relates to a method for treatment of the human or animal body, the search was carried out and was based on the stated effects of the composition.

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP2005/012101

| Patent document cited in search report | | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|---|---|---------------------|----------------------------|---------------------|
| WO 03099234 | A | 04-12-2003 | AU 2003240702 A1 | 12-12-2003 |
| | | | CA 2487161 A1 | 04-12-2003 |
| | | | CN 1671345 A | 21-09-2005 |
| | | | DE 10223157 C1 | 23-10-2003 |
| | | | EP 1509189 A1 | 02-03-2005 |
| | | | JP 2005531338 T | 20-10-2005 |
| | | | US 2005220724 A1 | 06-10-2005 |
| DE 3303937 | A | 20-06-1984 | AT 372272 B | 26-09-1983 |
| | | | AT 65382 A | 15-02-1983 |
| DE 2350548 | A | 25-04-1974 | AT 873073 A | 15-06-1977 |
| | | | AU 6104973 A | 10-04-1975 |
| | | | BE 806060 A1 | 12-04-1974 |
| | | | CA 1024449 A1 | 17-01-1978 |
| | | | CH 600877 A5 | 30-06-1978 |
| | | | ES 419619 A1 | 01-08-1976 |
| | | | FR 2202697 A1 | 10-05-1974 |
| | | | GB 1452125 A | 13-10-1976 |
| | | | IE 38371 B1 | 01-03-1978 |
| | | | IT 1053523 B | 10-10-1981 |
| | | | JP 49094187 A | 06-09-1974 |
| | | | NL 7314072 A | 16-04-1974 |
| | | | PH 11647 A | 08-05-1978 |
| DE 2131666 | A | 10-02-1972 | BE 768964 A1 | 03-11-1971 |
| | | | CA 943323 A1 | 12-03-1974 |
| | | | FR 2099284 A5 | 10-03-1972 |
| | | | IT 996529 B | 10-12-1975 |
| | | | NL 7108839 A | 28-12-1971 |
| | | | US 3679360 A | 25-07-1972 |
| WO 9810736 | A | 19-03-1998 | AT 207732 T | 15-11-2001 |
| | | | AU 715121 B2 | 20-01-2000 |
| | | | AU 4553897 A | 02-04-1998 |
| | | | BR 9712036 A | 18-01-2000 |
| | | | CA 2265463 A1 | 19-03-1998 |
| | | | CN 1235537 A | 17-11-1999 |
| | | | CZ 9900889 A3 | 11-08-1999 |
| | | | DE 69707905 D1 | 06-12-2001 |
| | | | DE 69707905 T2 | 25-04-2002 |
| | | | HU 9904169 A2 | 28-04-2000 |
| | | | JP 2001500144 T | 09-01-2001 |
| | | | KR 2000036080 A | 26-06-2000 |
| | | | NZ 334537 A | 22-12-2000 |
| | | | PL 332118 A1 | 30-08-1999 |
| | | | US 6010684 A | 04-01-2000 |
| | | | ZA 9708178 A | 12-03-1998 |

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2005/012101

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

A61K8/19 A61K8/21 A61K8/24 A61K8/34 A61K8/65
A61K8/73 A61Q11/00 A61K6/00 A61K6/027 A61K6/06

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, COMPENDEX, INSPEC, BIOSIS, EMBASE

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie* | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile | Betr. Anspruch Nr. |
|------------|--|--------------------|
| X | WO 03/099234 A (MAX PLANCK GESELLSCHAFT) 4. Dezember 2003 (2003-12-04) in der Anmeldung erwähnt Seite 10, Zeile 19 - Zeile 20 Beispiele Ansprüche | 1-26,28 |
| A | DE 33 03 937 A (EBNER NORBERT DR) 20. Juni 1984 (1984-06-20) in der Anmeldung erwähnt Beispiel Ansprüche | 1-28 |

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfindertischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfindertischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

Z Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

25. Januar 2006

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

03/02/2006

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Thornton, S

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2005/012101

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie° | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile | Betr. Anspruch Nr. |
|------------|---|--------------------|
| A | DE 23 50 548 A (PROCTER & GAMBLE) 25. April 1974 (1974-04-25) Seite 1 Seite 2 Seite 9, Absatz 2 Seite 10, Absatz 2 ----- | 1-28 |
| A | DE 21 31 666 A (NASA) 10. Februar 1972 (1972-02-10) Seite 3, Absätze 3,4 ----- | 1-28 |
| A | WO 98/10736 A (SMITHKLINE BEECHAM CONSUMER ;WIEDEMANN WOLFGANG (DE)) 19. März 1998 (1998-03-19) in der Anmeldung erwähnt Zusammenfassung ----- | 1-28 |

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

nationales Aktenzeichen
PCT/EP2005/012101

Feld II Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☒ Ansprüche Nr. —
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
Obwohl der Anspruch 27 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen Körpers beziehen, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Zusammensetzung.
2. ☐ Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3. ☐ Ansprüche Nr.
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld III Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- ☐ Die Zahlung zusätzlicher Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichung, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2005/012101

| Im Recherchenbericht angeführtes Patentedokument | | Datum der Veröffentlichung | Mitglied(er) der Patentfamilie | Datum der Veröffentlichung |
|---|---|-------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|
| WO 03099234 | A | 04-12-2003 | AU 2003240702 A1 | 12-12-2003 |
| | | | CA 2487161 A1 | 04-12-2003 |
| | | | CN 1671345 A | 21-09-2005 |
| | | | DE 10223157 C1 | 23-10-2003 |
| | | | EP 1509189 A1 | 02-03-2005 |
| | | | JP 2005531338 T | 20-10-2005 |
| | | | US 2005220724 A1 | 06-10-2005 |
| DE 3303937 | A | 20-06-1984 | AT 372272 B | 26-09-1983 |
| | | | AT 65382 A | 15-02-1983 |
| DE 2350548 | A | 25-04-1974 | AT 873073 A | 15-06-1977 |
| | | | AU 6104973 A | 10-04-1975 |
| | | | BE 806060 A1 | 12-04-1974 |
| | | | CA 1024449 A1 | 17-01-1978 |
| | | | CH 600877 A5 | 30-06-1978 |
| | | | ES 419619 A1 | 01-08-1976 |
| | | | FR 2202697 A1 | 10-05-1974 |
| | | | GB 1452125 A | 13-10-1976 |
| | | | IE 38371 B1 | 01-03-1978 |
| | | | IT 1053523 B | 10-10-1981 |
| | | | JP 49094187 A | 06-09-1974 |
| | | | NL 7314072 A | 16-04-1974 |
| | | | PH 11647 A | 08-05-1978 |
| DE 2131666 | A | 10-02-1972 | BE 768964 A1 | 03-11-1971 |
| | | | CA 943323 A1 | 12-03-1974 |
| | | | FR 2099284 A5 | 10-03-1972 |
| | | | IT 996529 B | 10-12-1975 |
| | | | NL 7108839 A | 28-12-1971 |
| | | | US 3679360 A | 25-07-1972 |
| WO 9810736 | A | 19-03-1998 | AT 207732 T | 15-11-2001 |
| | | | AU 715121 B2 | 20-01-2000 |
| | | | AU 4553897 A | 02-04-1998 |
| | | | BR 9712036 A | 18-01-2000 |
| | | | CA 2265463 A1 | 19-03-1998 |
| | | | CN 1235537 A | 17-11-1999 |
| | | | CZ 9900889 A3 | 11-08-1999 |
| | | | DE 69707905 D1 | 06-12-2001 |
| | | | DE 69707905 T2 | 25-04-2002 |
| | | | HU 9904169 A2 | 28-04-2000 |
| | | | JP 2001500144 T | 09-01-2001 |
| | | | KR 2000036080 A | 26-06-2000 |
| | | | NZ 334537 A | 22-12-2000 |
| | | | PL 332118 A1 | 30-08-1999 |
| | | | US 6010684 A | 04-01-2000 |
| | | | ZA 9708178 A | 12-03-1998 |